

Figure 7

Distribution and number of immunoreactive cells for neuronal stage-defining markers of granule cell lineages in the SGZ of the hippocampal dentate gyrus of male PND 21 and PND 77 offspring exposed to Aflatoxin M₁.

(A) PAX6, (B) TBR2, (C) DCX, (D) beta III tubulin. Representative images from 0-ppm controls and the 1.0-ppm

group at PND 21 are shown. Magnification: 400×; bar = 50 μm. Graphs show the number of immunoreactive

cells/unit length (mm) of the SGZ of the bilateral sides. Values are expressed as mean + SD. N = 10/group. * *P* < 0.05,

significantly different from 0-ppm controls by the Dunnett's test or Steel's test.

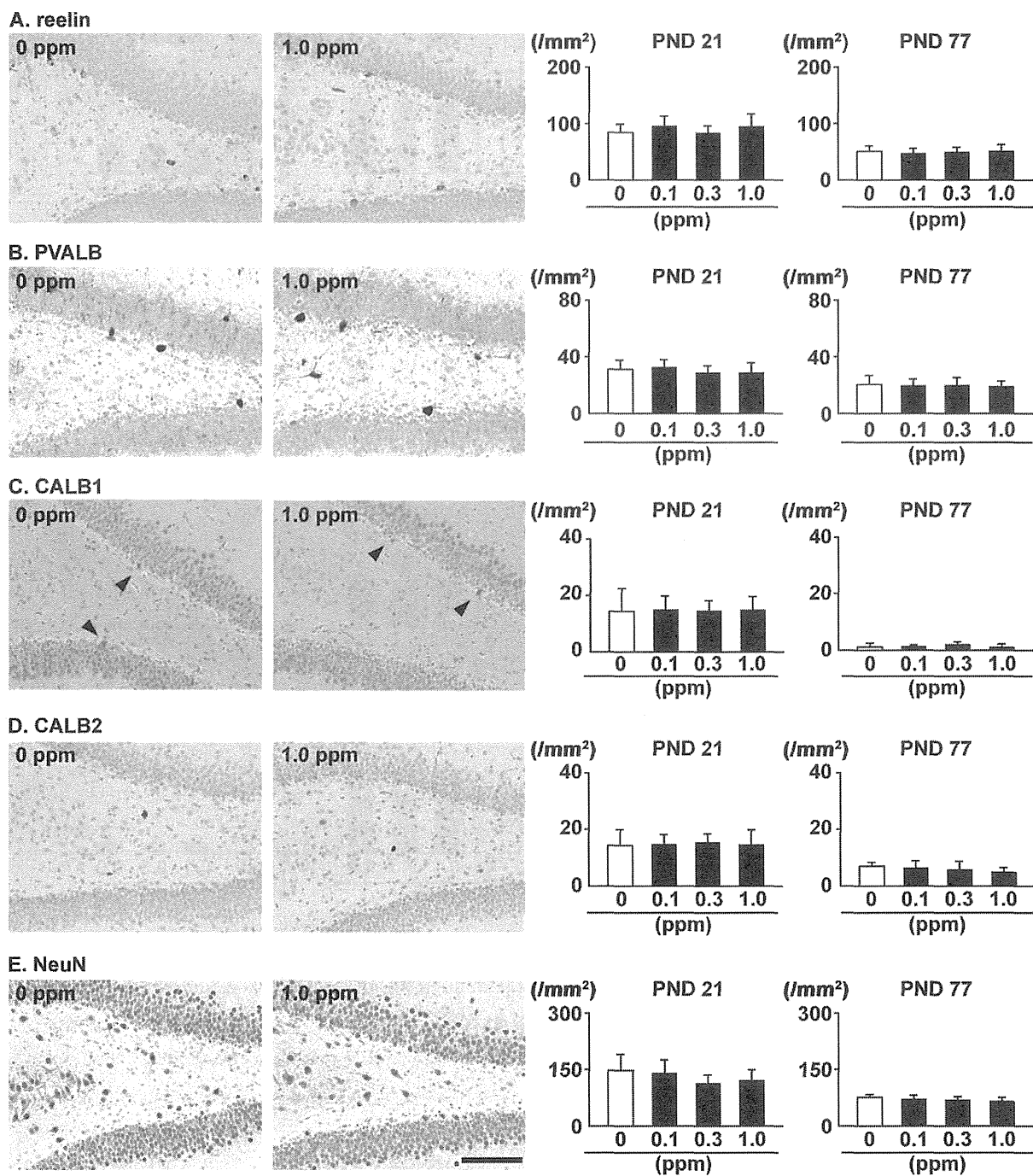


Figure 8

Distribution and number of immunoreactive cells for interneuronal markers and a mature neuronal marker in the hilus of the hippocampal dentate gyrus of male PND 21 and PND 77 offspring exposed to Aflatoxin M₁. (A) reelin. (B) PVALB. (C) CALB1. (D) CALB2. (E) NeuN. Representative images from 0-ppm controls and the 1.0-ppm group at PND 21 are shown. Magnification: 200 \times ; bar = 100 μ m. Graphs show the number of immunoreactive cells/unit area (mm^2) of the hilus of bilateral hemispheres. Values are expressed as the mean + SD. N = 10/group.

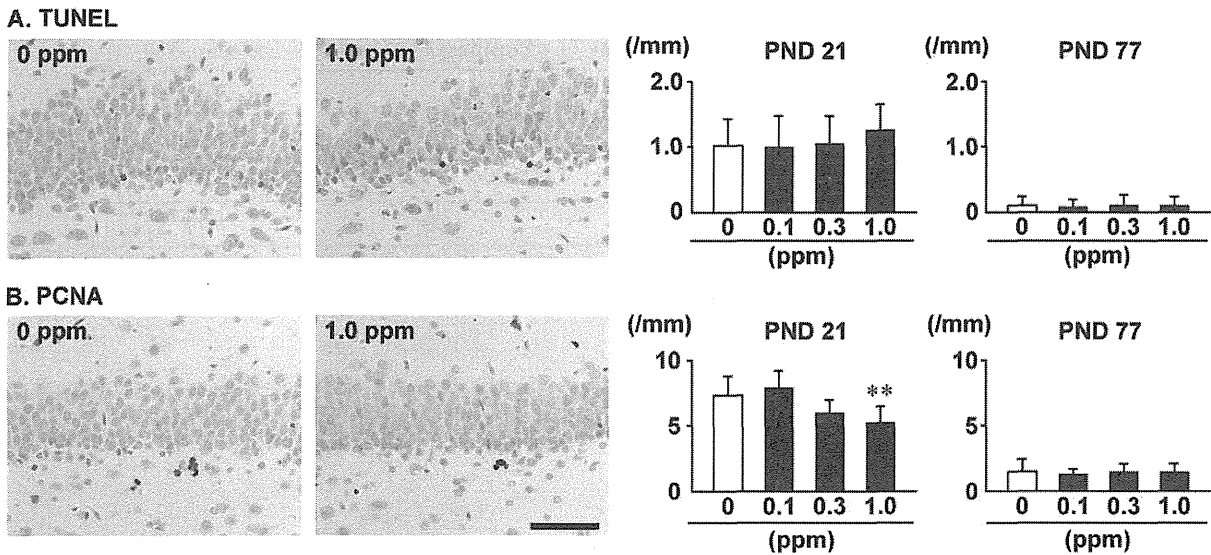


Figure 9

Distribution and number of apoptotic and proliferating cells in the SGZ of the hippocampal dentate gyrus of male PND 21 and PND 77 offspring exposed to Aflatoxin M₁. (A) TUNEL. (B) PCNA. Representative images from 0-ppm controls and the 1.0-ppm group at PND 21 are shown. Magnification: 400×; bar = 50 μm. Graphs show the number of immunoreactive cells/unit length (mm) of the SGZ of the bilateral sides. Values are expressed as the mean + SD. N = 10/group. ** $P < 0.01$, significantly different from 0-ppm controls by the Dunnett's test or Steel's test.

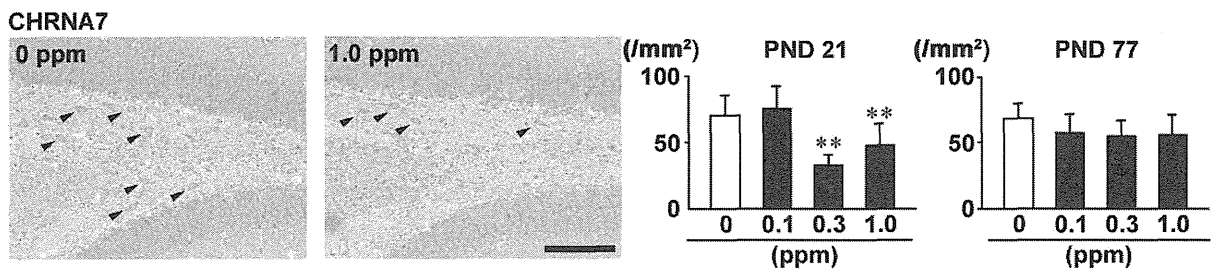


Figure 10

Distribution and number of immunoreactive cells for cholinergic receptor, nicotinic, alpha 7 (CHRNA7) in the hilus of the hippocampal dentate gyrus of male PND 21 and PND 77 offspring exposed to Aflatoxin M₁. Representative images from 0-ppm controls and the 1.0-ppm group at PND 21 are shown. Arrowheads indicate immunoreactive cells. Magnification: 200×; bar = 100 μm. Graphs show the number of immunoreactive cells/unit area (mm²) of the hilus of bilateral hemispheres. Values are expressed as the mean + SD. N = 10/group. ** $P < 0.01$, significantly different from 0-ppm controls by the Dunnett's test or Steel's test.

Table 9**Transcript levels in the hippocampal dentate gyrus of PND 21 offspring exposed to Aflatoxin M₁**

	AFB ₁ in diet (ppm)			
	0 (Control)		1.0	
	Relative transcript level normalized to		Relative transcript level normalized to	
	<i>Gapdh</i>	<i>Hprt1</i>	<i>Gapdh</i>	<i>Hprt1</i>
No. of animals examined	6	6	6	6
Neuronal stage-defining markers in granule cell lineages				
<i>Dcx</i>	1.05±0.36 ^a	1.03±0.45	1.06±0.41	0.99±0.38
<i>Dpysl3</i>	1.02±0.24	1.08±0.59	1.02±0.19	1.10±0.63
<i>Rbfox3</i>	1.08±0.42	1.08±0.44	1.01±0.38	0.99±0.32
Cell proliferation				
<i>Pcna</i>	1.01±0.13	1.01±0.13	0.86±0.17	0.87±0.23
Choline synthesizing enzyme and cholinergic receptors				
<i>Chat</i>	1.03±0.28 ^a	1.08±0.52	3.24±3.13*	2.54±2.16
<i>Chrna7</i>	1.04±0.27	1.04±0.28	0.75±0.28	0.73±0.21*
<i>Chrn2</i>	1.05±0.37	1.02±0.26	1.21±0.47	1.28±0.75
DNA repair				
<i>Apex1</i>	1.00±0.09	1.00±0.08	0.96±0.24	0.96±0.29
<i>Brip1</i>	1.01±0.20	1.02±0.21	0.87±0.13	0.89±0.32
<i>Chek1</i>	1.02±0.22	1.03±0.23	1.52±0.78	1.47±0.71
<i>Ercc1</i>	1.02±0.21	1.02±0.19	0.99±0.17	1.01±0.25
<i>Ogg1</i>	1.00±0.10	1.01±0.12	0.89±0.20	0.89±0.19
<i>Sirt1</i>	1.01±0.14	1.00±0.07	1.05±0.20	1.08±0.33
<i>Wee1</i>	1.01±0.14	1.00±0.07	0.86±0.13	0.86±0.19
<i>Xrcc5</i>	1.00±0.11	1.00±0.07	0.93±0.20	0.92±0.14

Abbreviations: AFB₁, Aflatoxin B₁; *Apex1*, APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1; *Brip1*, BRCA1 interacting protein C-terminal helicase 1; *Chat*, choline O-acetyltransferase; *Chek1*, checkpoint kinase 1; *Chrna7*, cholinergic receptor, nicotinic, alpha polypeptide 7; *Chrn2*, cholinergic receptor, nicotinic, beta polypeptide 2 (neuronal); *Dcx*, doublecortin; *Dpysl3*, dihydropyrimidinase-like 3; *Ercc1*, excision repair cross-complementation group 1; *Gapdh*, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; *Hprt1*, hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1; *Ogg1*, 8-oxoguanine DNA glycosylase; *Pcna*, proliferating cell nuclear antigen; *Rbfox3*, RNA binding protein, fox-1 homolog (*C. elegans*) 3; *Sirt1*, sirtuin 1; *Wee1*, WEE1 G2 checkpoint kinase; *Xrcc5*, X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 5.

^a Mean ± SD.

**P* < 0.05, significantly different from 0-ppm controls by the Student's *t*-test or Aspin-Welch's *t*-test.

Table 10**Transcript levels in the liver of dams exposed to Aflatoxin B₁ and PND 21 offspring exposed to Aflatoxin M₁**

	AFB ₁ in diet (ppm)			
	0 (Control)	0.1	0.3	1.0
Dams				
No. of animals examined	6	6	6	6
Cytochrome P450 enzymes and glutathione S-transferases				
<i>Cyp1a2</i>	1.01±0.19	0.83±0.14	1.00±0.20	1.43±0.14**
<i>Cyp3a1</i>	1.02±0.21	1.12±0.26	1.32±0.44	1.38±0.29
<i>Gsta5</i>	1.00±0.09	0.91±0.10	1.07±0.23	1.08±0.24
Male offspring on PND 21				
No. of animals examined	6	6	6	6
Cytochrome P450 enzymes and glutathione S-transferases				
<i>Cyp1a2</i>	1.05±0.22	0.96±0.39	1.12±0.28	1.08±0.45
<i>Cyp3a2</i>	1.04±0.32	1.31±0.36	1.13±0.28	1.56±0.37
<i>Gsta5</i>	1.05±0.33	1.09±0.44	1.09±0.44	0.96±0.28

Values are normalized to *Gapdh* as endogeneous control

Abbreviations: AFB₁, Aflatoxin B₁; *Cyp1a2*, cytochrome P450, family 1, subfamily a, polypeptide 2; *Cyp3a1*, cytochrome P450, family 3, subfamily a, polypeptide 1; *Cyp3a2*, cytochrome P450, family 3, subfamily a, polypeptide 2; *Gsta5*, glutathione S-transferase alpha 5

^a Mean ± SD.

** *P* < 0.01, significantly different from 0-ppm controls by the Dunnett's test or Steel's test.

Table S1**Primary antibodies and experimental conditions used in immunohistochemistry**

Antigen	Abbreviated name	Host species	Clonality	Clone number	Dilution	Antigen retrieval condition	Manufacturer
Beta III Tubulin	Tubb3	Mouse	Monoclonal IgG _{2a}	TUJ-1	1:500	Microwaving, pH 6.0 ^a	Abcam Inc. (Cambridge, UK)
Brain lipid binding protein	Blbp	Rabbit	Polyclonal IgG	n.a.	1:300	None	Abcam Inc.
Calbindin-D-28K	Calb1	Mouse	Monoclonal IgG ₁	CB-955	1:500	Microwaving, pH 6.0	Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)
Calbindin-D-29K (Calretinin)	Calb2	Mouse	Monoclonal IgG ₁	CRT01/ O.N.40	1:100	Microwaving, pH 6.0	LifeSpan Biosciences, Inc. (Seattle, WA, USA)
Cholinergic receptor, nicotinic, alpha 7	Chrna7	Rabbit	Polyclonal IgG	n.a.	1:200	Microwaving, pH 6.0	Abcam Inc.
Doublecortin	Dcx	Rabbit	Polyclonal IgG	n.a.	1:1000	None	Abcam Inc.
Glial fibrillary acidic protein	GFAP	Mouse	Monoclonal IgG ₁	GA5	1:200	None	Millipore Corporation (Temecula, CA, USA)
4-Hydroxynonenal	4-HNE	Mouse	Monoclonal IgG ₁	HNEJ-2	1:100	Autoclaving, pH 9.0 ^b	Abcam Inc.
Malondialdehyde	MDA	Mouse	Monoclonal, IgG ₂	1F83	1:200	Autoclaving, pH 9.0	Japan Institute for the Control of Aging (Shizuoka, Japan)
Neuron-specific nuclear protein	NeuN	Mouse	Monoclonal IgG ₁	A60	1:100	None	Millipore Corporation (Temecula, CA, USA)
Paired box 6	Pax6	Rabbit	Polyclonal IgG ₁	n.a.	1:200	Autoclaving, pH 6.0 ^c	LifeSpan Biosciences, Inc.
Parvalbumin	Pvalb	Mouse	Monoclonal IgG ₁	PARV-1 9	1:1000	Microwaving, pH 6.0	Millipore Corporation
Proliferating cell nuclear antigen	PCNA	Mouse	Monoclonal IgG _{2a}	PC10	1:200	None	Dako (Glostrup, Denmark)
Reelin	–	Mouse	Monoclonal IgG ₁	G10	1:1000	None	Novus Biologicals, Inc. (Littleton, CO, USA)
Stem cell factor	SCF	Rabbit	Polyclonal IgG	n.a.	1:2000	None	Abcam Inc.
T box brain 2	Tbr2	Rabbit	Polyclonal IgG	n.a.	1:500	Autoclaving, pH 6.0	Abcam Inc.

^a Microwaving at 90 °C for 10 min in 10 mM citrate buffer (pH 6.0).

^b Autoclaving at 121 °C for 10 min in Target Retrieval Solution (pH 9.0; Dako).

^c Autoclaving at 121 °C for 10 min in 10 mM citrate buffer (pH 6.0).

厚生労働科学研究費補助金
(食品の安全確保推進研究事業)

基準値の策定に資する食品汚染カビ毒の実態調査と
生体影響評価に関する研究

分担研究報告書

T-2 トキシンの経口摂取による心拍・体温・活動量への影響

研究分担者 局 博一
(東京大学大学院農学生命科学研究科附属食の安全研究センター特任教授)

研究要旨

T-2 トキシンは免疫抑制、造血障害、嘔吐作用などの生体影響を起こすことがよく知られている。一方、T-2 トキシンの循環器（心臓血管系）影響に関する知見は乏しい。平成 22 年度から 24 年度にかけて T-2 トキシンの循環機能影響を詳細に調べた結果、正常ラットへの T-2 トキシンの皮下投与 (0.1 mg/kg 以上) によって房室伝導障害や心室期外収縮などの不整脈が誘発されること、また自律神経機能に影響を及ぼすこと、また投与後 1 日目の測定では血中の活性酸素レベルが上昇することなどが明らかになった。また、*in vitro* の実験では、ラット一次培養心筋細胞への T-2 トキシンの作用によってミトコンドリア機能が抑制されることが明らかになった。

平成 25 年度は T-2 トキシンの経口摂取が全身機能（心拍数、活動量、体温）に及ぼす影響を自由行動下のラットのテレメトリー観察によって行った結果、12 ppm-T-2 トキシンの摂取群および 6 ppm-T-2 トキシンの摂取群で、摂取期間中に心拍数、活動量および体温のレベルおよび日周リズムへの影響が摂取開始の翌日から認められた。0 ppm-T-2 トキシンの摂取群ではこのような影響が見られなかったことから、T-2 トキシンの作用と考えられた。平成 26 年度はより低濃度の 3 ppm-T-2 トキシンの経口摂取によって上記の変化が生じるか否かを調べた。その結果、3 ppm の T-2 トキシンの含む粉餌を自由経口摂取したラットにおいて、摂取期間中に心拍数、活動量および体温レベルおよびそれらの日周リズムに明瞭な変化が生じないことが明らかになった。6 ppm 以上の濃度では、これらの指標の変化が認められていることから、影響閾値は 3 ppm と 6 ppm の間に存在する可能性が示唆された。

A. 研究目的

T-2 トキシンの循環器影響に関する研究報告は 1980 年代から断片的になされている。

我々は T-2 トキシンの心臓血管系および自律神経系に及ぼす影響を、全身レベル (*in vivo*) および細胞レベル (*in vitro*) の両面から観察している。これまでの研究で、T-2 ト

キシンを 0.1 mg/kg 以上の用量でラットに皮下投与すると、心拍数の変化に加えて房室伝導障害や心室期外収縮などの不整脈が誘発され、それらの背景要因として自律神経機能変化による影響と自律神経機能に影響されない心筋固有の異常性が関与する可能性が示唆された。一方、細胞レベルの研究では、T-2 ト

キシンの作用によって心筋細胞ミトコンドリア機能（電子伝達系機能）の低下が生じることが明らかになった。

上記の研究経緯をふまえ、今年度は昨年度に引き続いて T-2 トキシンの自由経口摂取による全身影響を明らかにするために、代表的な観察指標である心電図、体温、活動量の変化を自由行動下のラットを用いて観察した。平成 26 年度はより低濃度の 3 ppm-T-2 トキシンの経口摂取によって上記の変化が生じるか否かを調べた。

B. 研究方法

1. T-2 トキシン経口摂取試験

I. T-2 トキシンの濃度

T-2 トキシンの濃度は 3 ppm とし、8 匹のラットに自由摂取させた。対照群 (0 ppm-T-2 トキシン群) は昨年度に実験を行っているため、本年度は設けなかった。

II. T-2 トキシンの混餌作製

T-2 トキシンは T-2 トキシン標準品（和光純薬）を用いた。ラット用粉末飼料（オリエンタル酵母、MF）を用いて、T-2 トキシンの最終含有濃度が 3 ppm になるように飼料（T-2 トキシン混餌）を作製した。T-2 トキシン混餌は粉餌専用給餌器（夏目製作所、KN-675-4）に所定量を入れてケージ内で自由摂食させた。

III. 試験プロトコルおよびデータ取得

すべての実験群で成熟雄ラット（Slc:Wistar; 8 週齢）にラット用小型テレメーター送信機（DSI 社、TA11CTA-F40）を全身麻酔下で外科手術によって皮下に埋入した。1 週間の術後回復期の後、3 日間、通常餌の条件下で心電図、皮下体温、活動量の記録（投与前対照記録）を行った後、T-2 トキシン摂取群では T-2 トキシン混餌を 5 日間にわたって連続給与した。その後 T-2 トキシンを含まない通常粉餌に切り替えさらに 5 日間飼育した。また、対照群では全期間で T-2 トキシン

を含まない通常餌のみで飼育した。この期間中、上記の指標の記録を連続して行った。データは各ラットで 5 分間の間隔で 10 秒間ずつの自動サンプリングを専用のデータ取得・解析システム（Dataquest A.R.T）を用いて行った。また、同時に心電図専用解析ソフト（ソフトロン社、SBP2000U）を用いて心電図波形を連続記録した。なお、摂餌、飲水は自由摂取とし、専用飼育チャンバー内の温度を 23°C、明暗周期は 8:00（点灯） - 20:00（消灯）に維持した。通常餌と T-2 トキシン混餌との間の切り替えは 11:00~12:00 の時間帯に行った。

III. 統計学的有意差検定

12 ppm-T-2 トキシン群、6 ppm-T-2 トキシン群、0 ppm-T-2 トキシン群（対照群）の各群内において、T-2 トキシン摂取前、摂取中、摂取後の値（各個体の平均値）の有意差検定を一元配置分散分析（対応あり）および Bonferroni test によって行った。また、上記 3 群間における T-2 トキシン摂取前、摂取中、摂取後の値の有意差検定を二元配置分散分析（対応あり）および Tukey テストによって行った。いずれも $P < 0.05$ で有意差ありとした。

C. 研究結果

3 ppm の濃度で T-2 トキシンを含む餌を自由摂取したラットにおける摂取前 (Pre-T-2)、摂取中 (T-2)、摂取後 (Post-T-2) における心拍数、体温（皮下温）および活動量レベルの変化の有無およびそれらの日周リズムに及ぼす影響を調べた。テレメーター送信機の埋め込みを行ったラット 8 匹のうち 2 匹では心電図の記録状況が不安定であったため、残りの 6 匹を解析の対象にした。平均心拍数レベル (n=6) : Pre-T-2 で 418.5 bpm、T-2 で 418.0 bpm、Post-T-2 で 406.3bpm を示した。平均体温レベル (n=6) : Pre-T-2 で 36.81°C、T-2 で 36.77°C、Post-T-2 で 36.59°C を示した。平均活動量レベル (n=6) : Pre-T-2 で 2.05 cpm、T-2 で 2.10 cpm、Post-T-2 で 2.61 cpm を示した。上記の心拍数、体温、活動量の平

均的な推移に関して、T-2 トキシン摂取による統計学的に有意な変化は見られなかった。日周リズム：自己相関係数のコレログラムから得られた心拍数の周期 (2π) は、Pre-T-2 で 23.83 ± 0.4 時間 (n=6)、T-2 で 23.32 ± 0.76 時間 (n=6)、Post-T-2 (n=6) で 23.63 ± 0.61 時間 (n=6) であった。自己相関係数はそれぞれ 0.47 ± 0.05 (n=6)、 0.48 ± 0.07 (n=6)、 0.47 ± 0.11 (n=6) であった。体温の周期 (2π) は同様に、 0.49 ± 0.02 (n=6)、 0.43 ± 0.09 (n=6)、 0.46 ± 0.11 (n=6) であった。また、活動量の周期 (2π) は 0.28 ± 0.11 (n=6)、 0.34 ± 0.09 (n=5)、 0.32 ± 0.09 (n=5) であった。活動量は6匹中1匹でT-2 トキシン摂取期間中および摂取後に周期性が不明瞭となるものが見られた。心拍数、体温および活動量の周期と自己相関係数はいずれも有意な変化ではなかった。

以上の実験結果から、3 ppm の T-2 トキシンの自由経口摂取では、6 ppm および 12 ppm の場合とは異なり、全身レベルでみた生理機能に明瞭な変化は認められなかった。

D. 考察

本研究では、T-2 トキシンの経口摂取による全身影響を観察するために、ラットの自由行動下において心電図、活動量および体温の変化をテレメトリー法を用いて観察した。

T-2 トキシン摂取前、摂取中および摂取後の全期間において心拍数、活動量および体温（皮下温）はいずれも暗期（20:00-8:00）に高く、明期（8:00-20:00）に低くなる日周リズムを発現した。

これらの3指標の変化を3 ppm T-2 トキシン混餌の摂取前、摂取中、摂取後で比較したところ、明期および暗期のいずれも3指標のレベルに明瞭な変化は認められなかった。また、コレログラム解析による周期性（日周リズム）についても3 ppm T-2 トキシン混餌による影響は認められなかった。平成25年度の研究では、6 ppm および 12 ppm の T-2 トキシン混餌の摂取によって、心拍数、活動量

および体温に明瞭な変化が認められている。したがって、現時点では全身の生理的機能を代表する指標の変化による LOAEL は 6 ppm であるが、より詳細な観察を行えば 3 ppm と 6 ppm の間に LOAEL が存在する可能性がある。一方、分担研究者の渋谷らは成熟マウスへの経口摂取によって、1 ppm から胸腺重量の変化を観察している。また、妊娠期～哺乳期における母マウスへの経口摂取実験によって、3 ppm 以上の濃度で児マウスに発達神経毒性が生じることが明らかになっている。したがって、摂取期間の相違もあるが、臓器レベルでは 6 ppm 以下でも影響が生じる可能性が高いものと思われる。我々の以前の *in vitro* 実験では、低濃度の $6 \times 10^{-5} \mu\text{M}$ レベルで心筋細胞のミトコンドリア機能の抑制作用が認められている。今回観察した3指標は全身レベルでの統合的な生理的指標であり、必ずしも細胞レベルあるいは臓器レベルの変化を反映していない可能性が考えられる。

今後、心拍変動解析による自律神経機能影響および不整脈の誘発性に関する詳細な分析も行う必要がある。

E. 結論

3 ppm の T-2 トキシンを含む粉餌を自由経口摂取したラットにおいて、摂取期間中に心拍数、活動量および体温レベルおよびそれらの日周リズムに明瞭な変化が生じないことが明らかになった。6 ppm 以上の濃度では、これらの指標の変化が認められていることから、影響閾値は 3 ppm と 6 ppm の間に存在する可能性が示唆された。

参考文献

- 1) Ngampongsa S, Ito K, Kuwahara M, Kumagai S, Tsubone H. (2011): Arrhythmias and alterations in autonomic nervous function induced by deoxynivalenol (DON) in unrestrained rats. *J Toxicol Sci.* 36(4):453-460.
- 2) Ngampongsa S, Ito K, Kuwahara M, Ando K, Tsubone H. (2012): Reevaluation of

arrhythmias and alterations of the autonomic nervous activity induced by T-2 toxin through telemetric measurements in unrestrained rats. *Toxicol Mech Methods*. 22: 662-673.

- 3) Ngampongsa S, Hanafusa M, Ando K, Ito K, Kuwahara M, Yamamoto Y, Yamashita M, Tsuru Y, Tsubone H.: Toxic effects of T-2 toxin and deoxynivalenol on the mitochondrial electron transport system of cardiomyocytes in rats. *J Toxicol Sci*. 38(3): 495-502. 2013.

F. 健康危険情報
なし

G. 研究業績

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許所得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

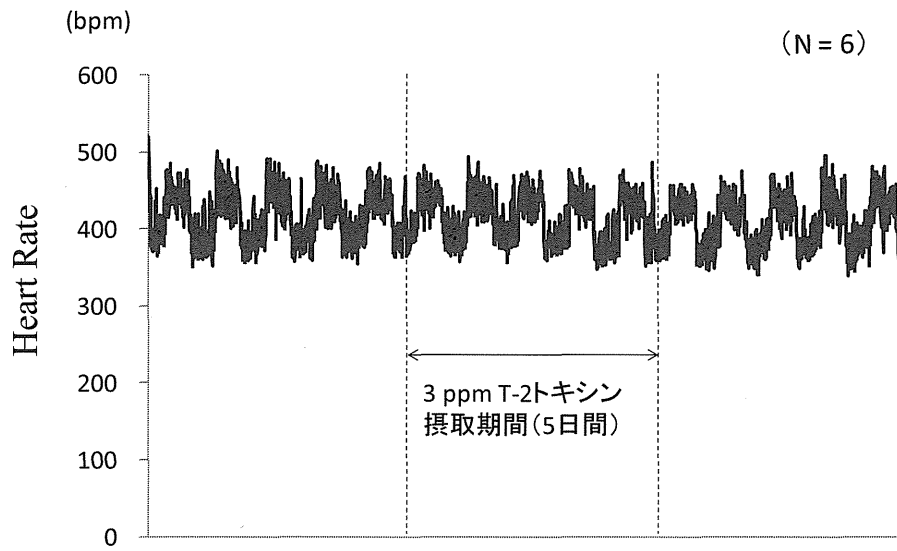


図1 3 ppm T-2 トキシシの自由経口摂取による心拍数の変化
6 匹の平均値の推移を示す。

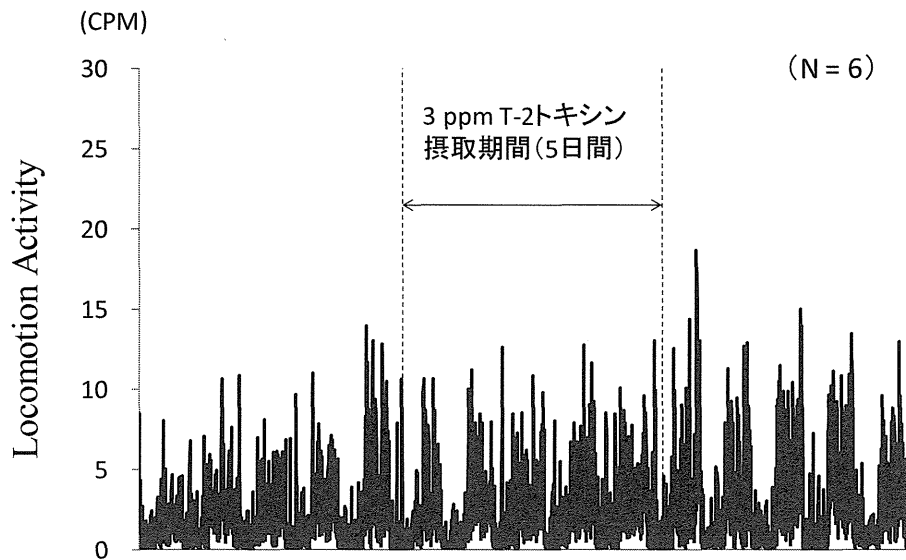


図2 3 ppm T-2 トキシシの自由経口摂取による活動量の変化
6 匹の平均値の推移を示す。

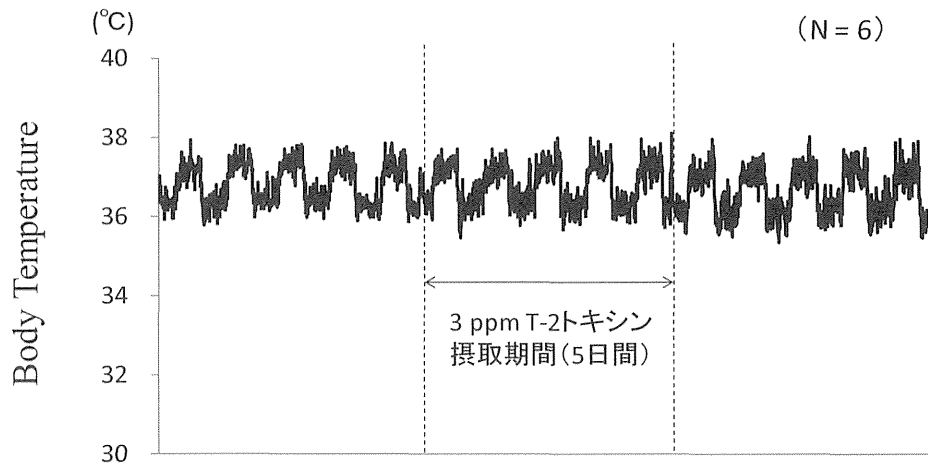


図3 3 ppm T-2 トキシンの自由経口摂取による体温の変化
6 匹の平均値の推移を示す。

表1. 3 ppm-T-2 トキシン群における心拍数の自己相関係数とその周期性の変化

	Rat	Auto-correlation Coefficient 3 ppm-T2 toxin				Rat	Periodicity 3 ppm-T2 toxin		
		Pre-T2	T2	Post-T2			Pre-T2	T2	Post-T2
Peak 1 (2 π)	1	0.551	0.561	0.552	Peak 1 (2 π)	1	23.83	23.83	24.00
	2	0.431	0.477	0.390		2	24.25	23.25	23.58
	3	0.458	0.386	0.490		3	23.08	21.75	24.3
	4	0.484	0.429	0.267		4	23.58	23.25	22.42
	5	0.509	0.569	0.559		5	24.08	23.83	23.50
	6	0.408	0.450	0.557		6	24.17	24.00	24.00
Mean		0.474	0.479	0.469	Mean	23.83	23.32	23.63	
SD		0.048	0.067	0.108	SD	0.40	0.76	0.61	
Peak 2 (4 π)	1	0.253	0.282	0.308	Peak 2 (4 π)	1	46.92	47.75	47.8
	2	0.233	0.262	0.253		2	48.80	48.33	47.33
	3	0.263	0.200	0.276		3	48.00	44.75	48.25
	4	0.31	0.205	0.215		4	47.58	46.83	48.33
	5	0.289	0.238	0.272		5	48.08	47.75	47.00
	6	0.277	0.26	0.219		6	48.50	48.00	47.92
Mean		0.271	0.241	0.257	Mean	47.98	47.24	47.77	
SD		0.025	0.030	0.033	SD	0.61	1.20	0.48	
Peak 3 (6 π)	1	0.075	0.085	0.05	Peak 3 (6 π)	1	66.58	64.92	71.74
	2	0.037	0.097	0.023		2	68.08	67.67	68.75
	3	0.034	0.086	0.026		3	67.08	65.92	69.67
	4	0.064	0.032	0.025		4	68.25	67.17	68.33
	5	0.053	0.044	0.087		5	67.75	67.50	68.08
	6	0.064	0.082	0.047		6	67.67	65.75	67.50
Mean		0.055	0.071	0.043	Mean	67.57	66.49	69.01	
SD		0.015	0.024	0.022	SD	0.58	1.02	1.39	

表 2. 3 ppm-T-2 トキシン群における活動量の自己相関係数とその周期性の変化

	Rat	Auto-correlation Coefficient 3 ppm-T2 toxin				Rat	Periodicity 3 ppm-T2 toxin		
		Pre-T2	T2	Post-T2			Pre-T2	T2	Post-T2
Peak 1 (2 π)	1	0.4229	0.501	0.405	Peak 1 (2 π)	1	23.92	23.75	23.75
	2	0.321	0.286	0.156		2	25.08	23.75	21.75
	3	0.128	0.268	0.376		3	17.83	21.5	23.83
	4	0.269	0.299	0.366		4	26.17	23.5	24
	5	0.357	0.36	0.362		5	26	24	22.75
	6	0.18	-	0.262		6	30.17	-	23.92
Mean		0.28	0.34	0.32	Mean		24.86	23.30	23.33
SD		0.11	0.09	0.09	SD		4.04	1.02	0.90
Peak 2 (4 π)	1	0.267	0.1841	0.269	Peak 2 (4 π)	1	46	47.75	48.08
	2	0.1	0.222	0.313		2	44.92	48.67	46.92
	3	0.087	0.072	0.217		3	50.58	43.5	48.25
	4	0.084	0.012	0.209		4	46.17	51	48.25
	5	0.15	0.160	0.153		5	48.5	48.92	47.08
	6	0.1	-	0.101		6	44.00	-	47.58
Mean		0.13	0.13	0.21	Mean		46.70	47.97	47.69
SD		0.07	0.09	0.08	SD		2.43	2.77	0.59
Peak 3 (6 π)	1	0.048	0.052	0.041	Peak 3 (6 π)	1	66.92	67.5	67.92
	2	0.033	0.049	0.027		2	66.42	63.75	68
	3	0.027	0.03	0.025		3	67.25	65.92	68.25
	4	0.052	0.06	0.036		4	65.08	64.5	64.92
	5	0.017	0.04	0.038		5	67.17	65.75	68.5
	6	0.125	-	-		6	66.25	-	-
Mean		0.05	0.05	0.03	Mean		66.52	65.48	67.52
SD		0.04	0.01	0.01	SD		0.81	1.44	1.47

表 3. 3 ppm-T-2 トキシン群における体温の自己相関係数とその周期性の変化

	Rat	Auto-correlation Coefficient 3 ppm-T2 toxin				Rat	Periodicity 3 ppm-T2 toxin		
		Pre-T2	T2	Post-T2			Pre-T2	T2	Post-T2
Peak 1 (2 π)	1	0.52	0.53	0.58	Peak 1 (2 π)	1	23.83	23.83	24.08
	2	0.48	0.42	0.34		2	24.58	23.08	23.42
	3	0.50	0.50	0.52		3	24.25	23.92	23.75
	4	0.50	0.28	0.34		4	24.00	23.75	23.92
	5	0.46	0.48	0.55		5	23.90	24.00	24.25
	6	0.50	0.38	0.42		6	24.00	23.30	24.00
Mean		0.49	0.43	0.46	Mean		24.09	23.65	23.90
SD		0.02	0.09	0.11	SD		0.28	0.37	0.29
Peak 2 (4 π)	1	0.23	0.26	0.31	Peak 2 (4 π)	1	47.83	47.92	47.58
	2	0.27	0.25	0.30		2	47.83	48.25	46.80
	3	0.31	0.20	0.29		3	48.25	48.30	47.83
	4	0.29	0.29	0.24		4	47.58	47.83	48.25
	5	0.25	0.25	0.22		5	48.17	48.17	43.17
	6	0.30	0.26	0.22		6	48.00	43.50	47.25
Mean		0.27	0.25	0.26	Mean		47.94	47.33	46.81
SD		0.03	0.03	0.04	SD		0.25	1.88	1.85
Peak 3 (6 π)	1	0.02	0.02	0.04	Peak 3 (6 π)	1	64.56	67.92	67.67
	2	0.03	0.09	0.07		2	68.33	69.33	64.75
	3	0.06	0.03	0.05		3	67.58	68.17	68.08
	4	0.08	0.09	0.05		4	67.50	64.75	63.92
	5	0.06	0.03	0.06		5	67.08	67.50	66.25
	6	0.03	0.06	0.05		6	67.08	67.17	65.58
Mean		0.05	0.05	0.05	Mean		67.02	67.47	66.04
SD		0.02	0.03	0.01	SD		1.29	1.53	1.63

個 表

これまでに調査を行った検体の種類と数

	22年度	23年度	24年度	25年度	26年度	計
小麦（輸入）	40	-	110	110		260
大麦（輸入）	10	-	31	32		73
ハト麦加工品	20	20	20	20	20	100
ライ麦粉	-	-	11	20	20	51
小麦粉	-	-	-	61	52	113
グラノーラ	-	10	-	10	15	35
ビール	-	10	20	20	20	70
コーングリッツ	20	20	20	20	20	100
コーンスナック	-	10	10	-	-	20
コーンフレーク	-	-	-	15	10	25
小豆	10	10	20	20	24	84
大豆	-	26	10	-	-	36
雑穀米	20	20	20	20	20	100
精米	-	-	10	10	10	30
ゴマ	-	10	20	20	20	70
計	120	136	302	378	231	1167

各試料における添加回収試験の結果

試料名	ZEN		T-2		HT-2	
	5 µg/kg	50 µg/kg	5 µg/kg	50 µg/kg	5 µg/kg	50 µg/kg
ライ麦粉	107.1	104.4	115.5	112.1	99.6	102.0
ハト麦加工品	85.5	87.4	104.2	107.2	87.2	88.6
国産小麦粉	76.9	78.6	108.5	101.2	97.8	90.6
輸入小麦粉	101.0	78.1	95.4	98.3	90.2	97.3
グラノーラ	105.7	116.0	116.9	111.1	106.3	108.7
ビール	98.4	96.9	101.2	97.9	93.0	89.4
コーングリッツ	94.2	105.2	114.5	111.5	104.2	98.2
コーンフレーク	98.4	94.5	83.7	97.7	100.2	97.6
ソバ	89.0	97.1	84.0	91.5	99.2	101.0
ゴマ	90.6	69.9	106.5	111.9	98.4	102.0
小豆	84.0	77.0	84.6	87.1	115.8	98.0
雑穀米	96.7	89.3	102.7	104.5	103.0	94.7
精米	90.9	88.0	94.4	95.6	85.6	92.8

単位は%、n=3 ずつ

それぞれの試料の結果（下線は検出限界値以上、定量限界値未満の値）

・ハト麦加工品

サンプルID	原産国	ZEN (ng/g)	T-2 (ng/g)	HT-2 (ng/g)
26-H01	島根県	2.73	1.27	0.32
26-H02	中国	162.75	ND	ND
26-H03	富山県	4.62	20.14	15.77
26-H04	ラオス	52.60	ND	ND
26-H05	岩手県	<u>0.14</u>	0.62	1.58
26-H06	日本	ND	0.46	ND
26-H07	タイ	4.41	ND	ND
26-H08	日本	0.49	0.13	ND
26-H09	宮城県	1.53	2.86	1.53
26-H10	日本	0.86	0.93	1.23
26-H11	-	76.30	ND	ND
26-H12	日本	0.20	0.25	ND
26-H13	日本	ND	ND	ND
26-H14	岩手県	0.20	0.71	1.62
26-H15	富山県	ND	<u>0.08</u>	0.20
26-H16	中国・タイ	12.70	ND	ND
26-H17	日本	0.49	0.88	1.40
26-H18	-	218.09	ND	ND
26-H19	日本	0.60	0.98	2.51
26-H20	富山県	0.18	<u>0.08</u>	0.44

・ライ麦粉

サンプルID	原産国	ZEN (ng/g)	T-2 (ng/g)	HT-2 (ng/g)
26-RY01	ドイツ	0.03	0.24	1.51
26-RY02	ドイツ	0.11	0.06	0.29
26-RY03	ドイツ・カナダ主体	0.20	0.18	1.14
26-RY04	ドイツ	1.01	0.12	1.24
26-RY05	ドイツ	0.10	0.04	0.17
26-RY06	ドイツ	0.57	0.36	2.35
26-RY07	アメリカ	ND	0.54	1.43
26-RY08	北海道	3.25	2.68	11.3
26-RY09	ドイツ・カナダ等	0.24	0.07	0.71
26-RY10	アメリカ	0.74	0.66	5.23
26-RY11	ドイツ	0.24	0.07	0.29
26-RY12	オーストラリア	30.68	0.07	0.11
26-RY13	北海道	1.72	3.11	12.00
26-RY14	アメリカ	ND	0.70	1.93
26-RY15	ドイツ	ND	0.11	0.48
26-RY16	ドイツ	0.53	0.04	0.14
26-RY17	ドイツ	0.18	0.10	0.49
26-RY18	ドイツ	0.68	0.06	0.32
26-RY19	ドイツ	0.36	0.24	1.48
26-RY20	ドイツ	0.75	0.11	0.94

・国産小麦粉

・輸入小麦粉

サンプルID	原産国	ZEN (ng/g)	T-2 (ng/g)	HT-2 (ng/g)
26-JWF01	北海道	28.65	0.34	0.90
26-JWF02	北海道	ND	<u>0.25</u>	1.47
26-JWF03	北海道	1.94	ND	ND
26-JWF04	北海道	ND	<u>0.22</u>	ND
26-JWF05	北海道	ND	0.55	1.56
26-JWF06	北海道	ND	<u>0.20</u>	ND
26-JWF07	北海道	ND	<u>0.26</u>	0.49
26-JWF08	北海道	ND	ND	ND
26-JWF09	北海道	ND	ND	0.42
26-JWF10	北海道	ND	ND	0.46
26-JWF11	北海道	<u>0.55</u>	0.55	2.23
26-JWF12	北海道	ND	<u>0.23</u>	ND
26-JWF13	北海道	1.12	ND	0.51
26-JWF14	北海道	<u>0.60</u>	ND	ND
26-JWF15	北海道	2.14	0.33	0.62
26-JWF16	岩手県	ND	ND	0.31
26-JWF17	岩手県	ND	<u>0.25</u>	0.32
26-JWF18	岩手県	ND	<u>0.25</u>	0.64
26-JWF19	岩手県	ND	<u>0.27</u>	0.72
26-JWF20	栃木県	ND	ND	0.31
26-JWF21	群馬県	ND	ND	ND
26-JWF22	長野県	ND	ND	0.81
26-JWF23	長野県	ND	ND	0.35
26-JWF24	長野県	0.51	ND	<u>0.20</u>
26-JWF25	熊本県	ND	ND	ND
26-JWF26	九州	ND	ND	ND

サンプルID	原産国	ZEN (ng/g)	T-2 (ng/g)	HT-2 (ng/g)
26-FWF01	US	ND	ND	ND
26-FWF02	US	ND	ND	ND
26-FWF03	US	ND	ND	ND
26-FWF04	US	ND	ND	ND
26-FWF05	US他	ND	ND	ND
26-FWF06	US、CA他	ND	ND	ND
26-FWF07	US、CA他	ND	ND	ND
26-FWF08	CA、US	ND	ND	ND
26-FWF09	CA、US	ND	ND	ND
26-FWF10	US、CA	ND	ND	0.65
26-FWF11	CA、US	ND	ND	1.14
26-FWF12	CA、US他	ND	ND	ND
26-FWF13	US、CA	ND	ND	1.19
26-FWF14	CA、US他	ND	ND	ND
26-FWF15	CA他	ND	ND	ND
26-FWF16	CA	ND	ND	<u>0.39</u>
26-FWF17	CA	ND	ND	ND
26-FWF18	CA	ND	ND	<u>0.48</u>
26-FWF19	CA	0.63	ND	<u>0.63</u>
26-FWF20	FR	0.49	ND	ND
26-FWF21	FR	ND	ND	ND
26-FWF22	CA	ND	ND	ND
26-FWF23	US主体	ND	ND	ND
26-FWF24	CA、US主体	ND	ND	ND
26-FWF25	US、CA主体	ND	ND	<u>0.31</u>
26-FWF26	AU、CA、 US主体	ND	ND	ND

・グラノーラ

サンプルID	原産国	ZEN (ng/g)	T-2 (ng/g)	HT-2 (ng/g)
26-GN01		ND	ND	ND
26-GN02		0.63	ND	ND
26-GN03		0.60	<u>0.02</u>	0.57
26-GN04		<u>0.10</u>	<u>0.06</u>	0.23
26-GN05		0.80	<u>0.02</u>	<u>0.10</u>
26-GN06	スイス	0.53	2.74	4.44
26-GN07	スイス	N.D.	0.77	1.69
26-GN08	イギリス	<u>0.10</u>	1.29	3.98
26-GN09	デンマーク	0.49	0.12	0.53
26-GN10		<u>0.20</u>	N.D.	ND
26-GN11		<u>0.15</u>	N.D.	ND
26-GN12		0.40	1.67	2.88
26-GN13		<u>0.29</u>	1.13	2.06
26-GN14		ND	ND	ND
26-GN15		ND	ND	ND

・ビール

サンプルID	原産国	ZEN (ng/g)	T-2 (ng/g)	HT-2 (ng/g)	α -ZOL (ng/g)	β -ZOL (ng/g)
26-BRf01	日本	ND	0.02	0.04	ND	0.07
26-BRf02	日本	ND	ND	ND	ND	ND
26-BRf03	日本	ND	<u>0.005</u>	ND	ND	ND
26-BRf04	日本	ND	<u>0.004</u>	<u>0.02</u>	ND	ND
26-BRf05	日本	ND	ND	<u>0.01</u>	ND	ND
26-BRf06	日本	ND	ND	ND	ND	ND
26-BRf07	日本	0.01	ND	ND	ND	ND
26-BRf08	日本	ND	ND	ND	ND	ND
26-BRf09	日本	0.01	0.03	0.08	ND	0.04
26-BRf10	日本	ND	ND	ND	ND	ND
26-BRf11	日本	ND	ND	ND	ND	ND
26-BRf12	日本	ND	0.03	0.08	ND	ND
26-BRf13	日本	ND	0.03	0.10	ND	0.02
26-BRf14	日本	ND	ND	ND	ND	ND
26-BRf15	日本	ND	<u>0.01</u>	0.06	ND	ND
26-BRf16	日本	ND	0.03	0.20	ND	<u>0.01</u>
26-BRf17	日本	ND	0.09	0.33	ND	<u>0.01</u>
26-BRf18	日本	ND	0.02	0.10	ND	ND
26-BRf19	韓国	ND	ND	<u>0.02</u>	ND	<u>0.01</u>
26-BRf20	ベトナム	ND	ND	<u>0.02</u>	ND	ND

・コーングリッツ

サンプルID	原産国	ZEN (ng/g)	T-2 (ng/g)	HT-2 (ng/g)
26-CG01	アメリカ	ND	0.23	0.24
26-CG02	ブラジル	3.14	ND	ND
26-CG03	中国	<u>0.28</u>	3.38	2.74
26-CG04	アメリカ	1.90	<u>0.02</u>	<u>0.06</u>
26-CG05	アメリカ	<u>0.11</u>	0.29	<u>0.11</u>
26-CG06		1.74	<u>0.07</u>	<u>0.12</u>
26-CG07	アメリカ	0.39	0.48	0.39
26-CG08		<u>0.09</u>	0.39	0.23
26-CG09	アメリカ	<u>0.12</u>	0.19	<u>0.11</u>
26-CG10	アメリカ	1.62	0.40	0.20
26-CG11		<u>0.11</u>	0.19	0.19
26-CG12		0.63	2.40	1.04
26-CG13	アメリカ	0.40	0.90	0.71
26-CG14	オーストラリア	ND	2.30	1.35
26-CG15		5.06	4.08	3.38

・コーンフレーク

サンプルID	ZEN (ng/g)	T-2 (ng/g)	HT-2 (ng/g)
26-KF01	<u>0.08</u>	ND	ND
26-KF02	<u>0.07</u>	ND	ND
26-KF03	<u>0.07</u>	ND	ND
26-KF04	0.30	ND	ND
26-KF05	0.09	ND	<u>0.21</u>
26-KF06	2.25	ND	0.31
26-KF07	1.05	ND	ND
26-KF08	0.23	ND	ND
26-KF09	0.13	ND	ND
26-KF10	1.38	ND	ND